

運動トレーニングと免疫能
——特に Opioid Peptides の役割について——

名古屋大学 押田 芳治
(共同研究者) 同 佐藤 祐造
同 大沢 功

**Studies on the Relationship Between
Physical Training and Immunity**
——Effects of Opioid Peptides on Immunity
in Trained and Untrained Rats——

by

Yoshiharu Oshida, Yuzo Sato
*Research Center of Health, Physical
Fitness and Sports, Nagoya University*
Isao Osawa
*The Third Department of Internal Medicine,
School of Medicine Nagoya University*

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the role of β -endorphin on the effectiveness of immunity after long-term physical training.

Fifty $\mu\text{g}/\text{kg}$ of β -endorphin was intraperitoneally injected in both trained and sedentary rats. Three hours after injection, spleens were dissociated into a single-cell suspension and natural killer cytotoxicity was measured, and the numbers of peripheral total leucocytes and lymphocytes and the levels of lymphocyte transformation response to concanavalin A were determined.

The following results were obtained.

1. There was no change in the number of total leucocytes or lymphocytes in both groups.
2. Natural killer cytotoxicity and the response of lymphocytes to

concanavalin A were significantly higher in trained rats than in sedentary rats. These results suggest that β -endorphin plays a role in effectiveness of immunity after physical training.

要 約

長期運動トレーニングの効果発現におけるOpioid Peptides, 特に β -endorphin (β -EP) の果たす役割について動物実験を行い, 免疫学的に検討を加えた。

トレーニングラット群, 対照 (非運動) ラット群の2群に分け, β -EP を $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 腹腔内投与し, 脾臓細胞の natural killer (NK) 細胞活性, 末梢血中の総白血球数, リンパ球数, concanavalin A によるリンパ球幼若化反応を測定した。

1. 末梢総白血球数, リンパ球数は両群間に有意差を認めなかった。

2. トレーニングラット群は, 脾臓細胞のNK細胞活性, 末梢リンパ球幼若化反応とも対照ラット群に比し有意に大であった ($p < 0.05 \sim 0.01$)。

以上, 長期運動トレーニングによる免疫学的有効性に対して, β -EP も重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

緒 言

長期運動トレーニングが最大酸素摂取量の増大, インスリン感受性の亢進など, 呼吸循環器系や内分泌代謝系に種々の効果を与えることは, 周知の事実である^{1,2,3)}。また, 運動トレーニングの継続は, 免疫能を賦活させ, 感染症の防止に有用であるとも信じられている⁴⁾。事実, 非鍛練者, 鍛練者に急性運動負荷を与え, その前後における各種免疫学的検討を行った我々の成績でも, 鍛練者にのみ免疫学的優位性を認めている^{5,6)}。非鍛練者と鍛練者にみられるこのような免疫学的相違については, これまでによく検討されたコーチゾ

ール, カテコールアミンなどの副腎系ホルモン群の上昇のみでは説明が困難である⁷⁾。しかしながら, Carr ら⁷⁾, Shavit ら⁸⁾, Farrell ら⁹⁾ の報告によれば, 運動トレーニング—免疫能—opioid peptides の3者間に何らかの関係の存在が推察される。そこで, 今回は免疫能の面から運動トレーニングの効果発現における opioid peptides, 特に β -endorphin (β -EP) の果たす役割についてラットを用い検討を行ったので報告する。

研究 方法

1. 実験動物

250 g 前後の Wistar 系雄性ラット14匹を用い, うち6匹を回転車輪式自由運動装置にて, 8週間の運動トレーニングを実施させ, 1日平均5 km 走行した群をトレーニングラットとした。一方, 残り8匹を個々に固定飼育ケージに8週間入れ, 対照ラットとした。なお, 室温は 25°C , 湿度は60%に保ち, 固形飼料, 飲料水を自由に摂取させ, 6:00~18:00, 18:00~6:00の明暗サイクルで飼育した。トレーニングラットは18時間の運動中止, 絶食後, 対照ラットは18時間の絶食後におのおの実験に供した。

2. 実験方法

ネブタール麻酔下 ($40\text{mg}/\text{kg}$) で, β -EP (Sigma) を $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 腹腔内投与し, 3時間後, 脾臓を無菌的に取り出し, さらに断頭により, 末梢血を採取した。

脾臓細胞は無菌ピンセットと26G針で丁寧に分離, 2 ml の RPMI1640 に浮遊させ, 低張食塩水を加えることで赤血球を破壊した。3回の洗浄後, トリパンブルー染色法で cell viability を確

認し, RPMI1640 1ml 当り脾臓細胞 1×10^6 個に調整した (effector 細胞E). ^{51}Cr でラベルされた MOLTA4 細胞を target 細胞(T) とし, 予め確認した至適混合比 40 : 1 (E : T) で, natural killer (NK) 細胞活性を測定した⁸⁾.

次に, 末梢血で, まず総白血球数, リンパ球数を測定し, 続いて既報のごとく⁶⁾, リンパ球を無菌的に分離, PRMI1640 1ml 当り 1×10^6 個に調整した. concanavalin A (ConA, sigma) $60 \mu\text{g}/\text{ml}$ を用い, Eskola ら¹⁰⁾ の方法に準じ, ConA にリンパ球幼若化反応を stimulation index(SI) で求めた.

数値は, 平均値 \pm 平均偏差で表わし, 推計学的検討は Student's t test を用いた.

研究結果

1. 総白血球数 (図 1)

トレーニングラット群は $3,996 \pm 1,206/\text{mm}^3$ であり, 対照ラット群の $4,375 \pm 1,020/\text{mm}^3$ とほぼ同一レベルであった.

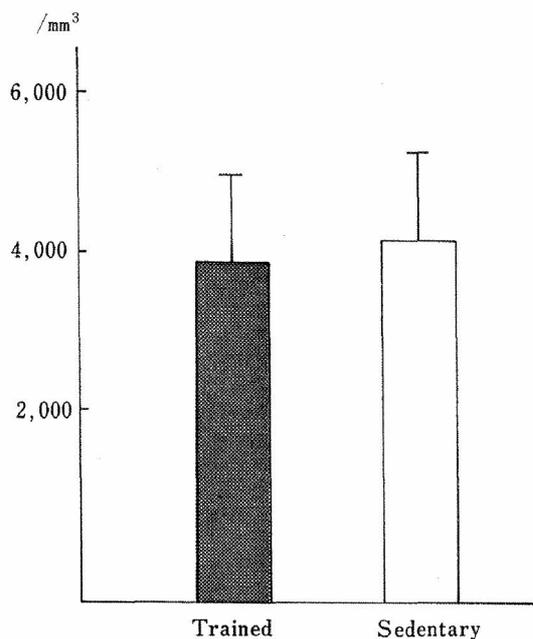


図 1 Difference in numbers of total leucocytes between trained and sedentary rats after intraperitoneal injection of β -endorphin (β -EP).

2. リンパ球数 (図 2)

トレーニングラット群は $3,246 \pm 1,125/\text{mm}^3$ を呈し, 対照ラット群は $3,154 \pm 1,264/\text{mm}^3$ であった. 両群間には総白血球数同様, 有意差を認めなかった.

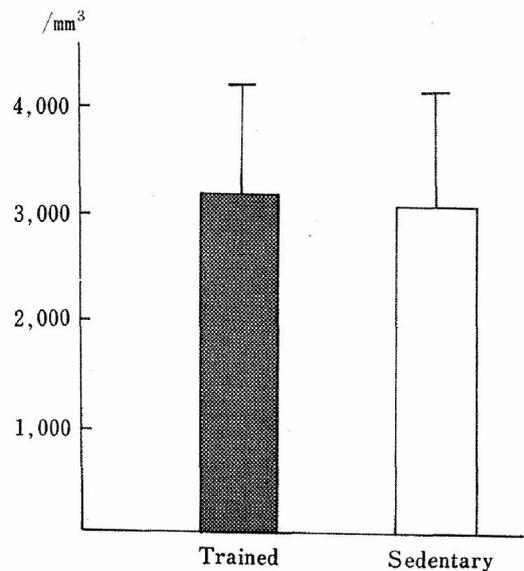


図 2 Difference in numbers of lymphocytes between trained and sedentary rats after intraperitoneal injection of β -endorphin (β -EP).

3. NK細胞活性 (図 3)

トレーニングラット群は $7.2 \pm 3.5\%$ で, 対照ラット群の $2.0 \pm 0.8\%$ に比し, 有意の高値を示した ($p < 0.01$).

4. ConA によるリンパ球幼若化反応 (図 4)

トレーニングラット群は 5.3 ± 1.6 SI を示し対照ラット群の 2.1 ± 1.6 SI に比して有意に大であった ($p < 0.05$).

考 察

今回, 我々は長期運動トレーニングが免疫能におよぼす影響について, 特に β -EP の果たす役割に関して, 総白血球数, リンパ球数, NK 細胞活性, ConA によるリンパ球幼若化反応の面から, 動物実験的に検討を加えた. その結果, β -EP の腹腔内投与により, 総白血球数, リンパ球数はトレーニングラット群, 対照ラット群の両群間に有

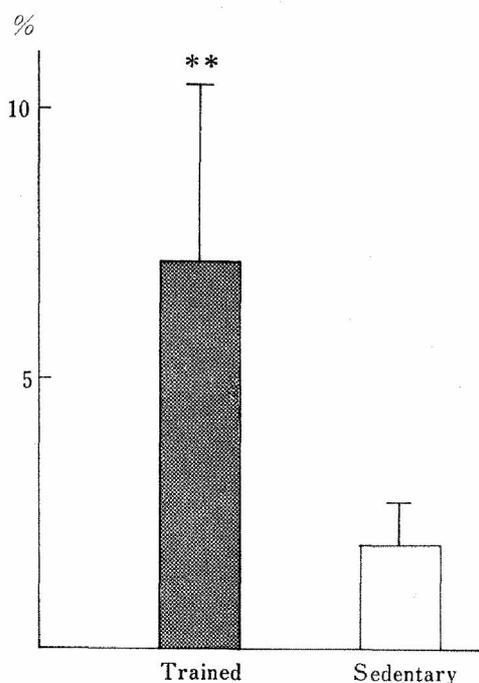


図3 Difference in natural killer (NK) cytotoxicity between trained and sedentary rats after intraperitoneal injection of β -endorphin (β -EP).

** Significantly different ($p < 0.01$) compared to sedentary rats.

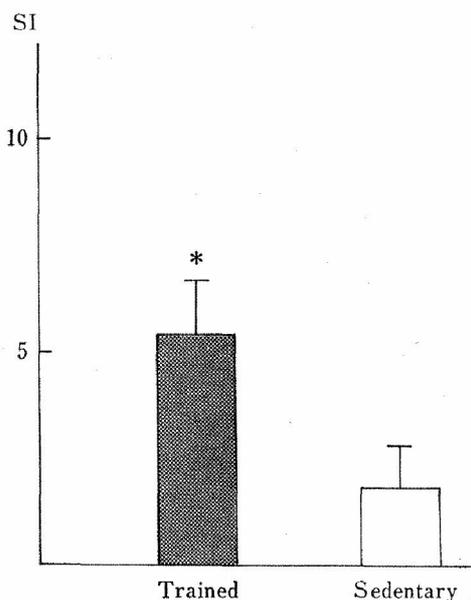


図4 Difference in levels of lymphocyte transformation to concanavalin A (Con A) between trained and sedentary rats after intraperitoneal injection of β -endorphin (β -EP).

意差を認めなかったものの、NK 細胞活性、ConA によるリンパ球幼若化反応では、トレーニングラット群は対照ラット群に比して有意に高値を示した。

総白血球数、リンパ球数の変動に関するこれまでの報告によれば、Bishop ら¹¹⁾ はコーチゾールの投与により総白血球の増加を、Crary ら¹²⁾ は 0.2mg のエピネフリンの皮下注によりリンパ球数の増加をそれぞれ認めている。さらに、Yu ら¹³⁾ は短時間 (10~15分) の運動後、血中コーチゾールの上昇と同時にリンパ球数の増加を報告している。したがって、末梢血中の総白血球数、リンパ球数は、血中コーチゾールやカテコールアミンにより、変動をきたし、 β -EP では影響されないものと考えられる。

一方、リンパ球幼若化反応、NK 細胞活性が、コーチゾール¹³⁾、エピネフリン^{12,14)}、成長ホルモン¹⁵⁾、 β -EP をはじめとする opioid peptides^{8,16)} によって種々修飾されることはよく知られている。また、これらのホルモン群は急性運動負荷後、一過性に血中濃度が上昇することも報告されている^{9,13,14)}。特に、鍛練者に認められる血中 β -EP の反応動態^{7,9)}、すなわち非鍛練者に比し有意の上昇を呈することが、鍛練者の急性ストレス下における免疫学的優位性と深い関わりを持つと推定されている⁹⁾。

今回の我々の実験系では、トレーニングラットは運動中止18時間後に実験に供しているため、最終運動による内分泌変動は考慮に入れる必要がないと考えられる。したがって、トレーニングラット群と対照ラット群にみられた、ConA によるリンパ球幼若化反応、NK 細胞活性の有意の差は、腹腔内投与された β -EP に対する脾臓細胞、末梢リンパ球の反応性の相違に基づくものであると思われる。Mäki ら¹⁷⁾ は鍛練者、非鍛練者のリンパ球の β -レセプター数を調べ、鍛練者に有意の増大を認めたと報告している。トレーニングラット群、

対照ラット群での β -EP の反応性の相違は、脾臓細胞、末梢リンパ球の β -EP に対するレセプター数の差による可能性も否定できないと思われる。

β -EP はヒトにおいて、末梢リンパ球の NK 細胞活性を高め¹⁸⁾、リンパ球幼若化反応を減弱¹⁹⁾させることが知られている。一方、ラット脾臓細胞においては、ヒトの場合と全く逆に、NK 細胞活性を抑制し、リンパ球幼若化反応を亢進させるといわれている¹⁶⁾。今回の検討成績によれば、トレーニングラット群の脾臓細胞の NK 細胞活性、末梢血のリンパ球幼若化反応とも対照ラット群に比し有意に大であった。この成績、特に NK 細胞活性の成績は、これまでの報告^{8,16)} と相反するように思われる。しかしながら、長期運動トレーニングの実施により、生体により有利な方向、すなわちラット脾臓細胞の β -EP に対する反応性の低下による NK 細胞活性の増大、末梢リンパ球の β -EP に対する反応性の増加によるリンパ球幼若化反応の上昇が惹起されたことによるとも推察される。あるいは、安静により前述と逆の現象がおきた可能性も考えられる。今後、ラット脾臓細胞、末梢リンパ球の β -EP に対するレセプター数、結合性について、さらに β -EP を介しての交感神経系の関与⁹⁾ についても検討を加える必要があると思われる。

また、今回、我々は $50\mu\text{g}/\text{kg}$ の β -EP をラットの腹腔内に投与したが、Shavit ら¹⁶⁾ は morphine sulfate を 10, 30, $50\text{mg}/\text{kg}$ の皮下注量で、ラットの脾臓細胞の NK 細胞活性を検討している。Plotnikoff ら²⁰⁾ は、10, $30\text{mg}/\text{kg}$ のエンケファリンをマウスに投与し、胸腺、脾臓の各重量の変化を検討している。 β -EP は、これらの薬剤より薬理作用が強力なので、前述の投与を行ったが、今後、投与量、投与方法も考慮し、さらに検討を加える予定である。

結 語

我々は、トレーニングラット、対照（非運動）ラットを対象に、 β -EP を腹腔内投与し、末梢血の総白血球数、リンパ球数 ConA によるリンパ球幼若化反応、脾臓細胞の NK 細胞を求め、以下の結論を得た。

1. 総白血球数、リンパ球数とも両群間に有意差を認めなかった。
2. トレーニングラット群のリンパ球幼若化反応は対照ラットに比し、有意に大であった ($p < 0.05$)。
3. NK 細胞活性でも、トレーニングラット群は対照ラット群に比し、有意の増大が認められた ($p < 0.01$)。

以上の成績は、長期運動トレーニングによる免疫学的有効性に対して、 β -EP が重要な役割を果たしている可能性を示唆している。

文 献

- 1) Sato, Y., Iguchi, A., Sakamoto, N.; Biochemical determination of training effects using insulin clamp technique., *Horm. metab. Res.*, **16**: 483—486 (1984)
- 2) Sato, Y., Hayamizu, S., Yamamoto, C., Ohkuwa, Y., Yamanouchi, K., Sakamoto, N.; Improved insulin sensitivity in carbohydrate and lipid metabolism after physical training., *Int. J. Sports Med.*, **7**: 307—310 (1986)
- 3) 岡田節朗, 佐藤祐造, 山本親, 押田芳治, 井口昭久, 坂本信夫; 糖尿病の運動療法に関する研究 (第13報) —副腎髓質摘出ラットにおけるインスリン感受性の変動—, *糖尿病*, **31**: 733—737 (1988)
- 4) Simon, H.B.; The immunology of exercise *JAMA* **252**: 2735—2738 (1984)
- 5) 押田芳治, 山之内国男, 早水サヨ子, 蛭田秀一, 佐藤祐造; 運動トレーニングと免疫能 (第1報) —非鍛練者に対する急性運動負荷の影響—, *体力科学*, **36**: 72—77 (1987)
- 6) Oshida, Y., Yamanouchi, K., Hayamizu, S.,

- Sato, Y.; Effect of acute physical exercise on lymphocyte subpopulations in trained and untrained subjects., *Int. J. Sports Med.*, **9** : 137—140 (1988)
- 7) Carr, D.B., Bullin, B.A., Skrinar, G.S., Arnold, M.A., Rosenblatt, M., Beitins, I.Z., Martin, J.B., McArthur, J.W.; Physical conditioning facilitates the exercise-induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotropin in women. *305* : 560—563 (1981)
 - 8) Shavit, Y., Depaulis, A., Martin, F.C., Terman, G.W., Pechnick, R.N., Zane, C.J., Gale, R.P., Liebeskind, J.C.; Involvement of brain opiate receptors in the immune-suppressive effects of morphine., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83** : 7114—7117 (1986)
 - 9) Farrell, P.A., Kjaer, M., Bach, F.W., Galbo, H.; Beta-endorphin and adrenocorticotropin response to submaximal treadmill exercise in trained and untrained males., *Acta Physiol. Scand.*, **13** : 619—625 (1987)
 - 10) Eskola, J., Runskanen, O., Soppi, E., Vilianen, M., Jarrinen, M., Jörvinen, H., Joivonen, H., Kouvalainen, K.; Effect of sport stress on lymphocyte transformation and antibody formation., *Clin. exp. Immunol.*, **32** : 339—345 (1978)
 - 11) Bishop, C.R., Athes, J.W., Boggs, D.R., Warner, H.R., Cartwright, G.E., Wintrobe, M.M.; Leucocytes studies. XIII. A nonsteady state kinetic evaluation of the mechanism of cortisone induced granulocytosis., *J. Clin. Invest.*, **47** : 249—260 (1967)
 - 12) Crary, B., Borysenko, M., Sutherland, D.C., Kutz, I., Borysenko, J.Z., Benson, H.; Decrease in mitogen responsiveness of mononuclear cells from peripheral blood after epinephrine administration in humans. *J. Immunol.*, **130** : 694—697 (1983)
 - 13) Yu, D.T.Y., Clements, P.J., Pearson, C.M.; Effect of corticosteroids on exercise-induced lymphocytes. *Clin. exp. Immunol.*, **28** : 326—331 (1977)
 - 14) Landmann, P.A., Muller, F.B., Perini, C.H., Wesp, M.; Changes of immunoregulatory cells induced by psychological and physical stress: relationship to plasma catecholamines. *Clin. exp. Immunol.*, **58** : 127—135 (1984)
 - 15) Saxena, Q.B., Saxena, P.K., Adler, W.H.; Regulation of natural killer activity in vivo. III. Effect of hypophysectomy and growth hormone treatment on the natural killer activity of the mouse spleen cell population. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, **67** : 169—174 (1982)
 - 16) Shavit, Y., Lewis, J.W., Terman, G.W., Gale, R.P., Liebeskind, J.C. ; Opioid peptides mediate the suppressive effect of stress on natural kill cell cytotoxicity. *Science.*, **223** : 188—190 (1984)
 - 17) Mäki, T., Kontula, K., Myllynen, P., Härkönen, M.; β -adrenergic receptors of human lymphocytes in physically active and immobilized subjects: characterization by a polyethylene glycol precipitation assay. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **47** : 261—267 (1987)
 - 18) Mandler, R.N., Biddison, W.E., Mandler, R., Serrate, S.A.; β -endorphin augments the cytolytic activity and interferon production of natural killer cells. *J. Immunol.*, **136** : 934—939 (1986)
 - 19) Levy, E.M., McIntosh, T., Black, P.H.; Elevation of circulating β -endorphin levels with concomitant depression of immune parameters after traumatic injury. *J. Trauma.*, **26** : 246—249 (1986)
 - 20) Plotnikoff, N.P., Miller, G.C.; Enkephalins as immunomodulators. *Int. J. Immunopharm.*, **5** : 437—441 (1983)